增强型 ATP 检测试剂盒
Enhanced ATP Assay Kit

产品编号：MA0440　　规格：200T

产品内容

产品组成	MA0440-1
ATP 检测试剂	25mL
ATP 标准溶液	100μL
ATP 检测裂解液	100mL
说明书	1 份

产品简介

ATP 是生物体内能量转换最基本的载体，其含量的变化直接关系到各器官的能量代谢。ATP 作为最重要的能量分子在细胞的各种生理、病理过程中起着重要作用。ATP 水平的改变，会影响许多细胞的功能。通常细胞在凋亡、坏死或处于一些毒性状态下，ATP 水平会下降，而高葡萄糖刺激等对于一些细胞可以上调细胞内 ATP 水平。通常 ATP 水平的下降表明线粒体的功能受损或下降，在细胞凋亡时 ATP 水平的下降通常和线粒体的膜电位下降同时发生。ATP 含量测定试剂盒可以用于检测普通溶液、细胞或组织内的 ATP 水平。

本试剂盒根据萤火虫荧光素酶（firefly luciferase，也称荧光素酶）催化荧光素产生荧光时需要ATP提供能量研制而成。当萤火虫荧光素酶和荧光素都过量时，在一定的浓度范围内荧光的产生和ATP的浓度成正比。这样就可以高灵敏地检测溶液中的ATP浓度。

使用方法

（一）样品制备：

【注意：样品裂解需在 4℃或冰上操作】

1. 对于贴壁细胞：吸除培养液，按照 6 孔板每孔加入 200 微升裂解液的比例（即相当于细胞培养液量 2 毫升的 1/10）加入裂解液，裂解细胞。裂解细胞时为了裂解充分，可以使用移液器进行反复吹打或晃动培养板使裂解液充分接触并裂解细胞。通常细胞在接触裂解液后会立即裂解。裂解后 4℃ 10000rpm 离心 5 分钟，取上清，用于后续的测定。

2. 对于悬浮细胞：用离心管离心沉淀细胞，弃上清，轻轻弹散细胞，按照 6 孔板每孔的细胞量加入 200 微升裂解液的比例加入裂解液，裂解细胞。裂解细胞时为了裂解充分可以弹击离心管管底或适当 Vortex 使裂解液充分接触并裂解细胞。通常细胞在接触裂解液后会立即裂解。裂解后 4℃ 10000rpm 离心 5 分钟，取上清，用于后续的测定。

3. 对于组织样品：按照每 20 毫克组织加入约 100-200 微升裂解液的比例加入裂解液，然后用玻璃匀浆器或其它匀浆设备进行匀浆。充分匀浆可以确保组织被完全裂解。裂解后 4℃ 10000rpm 离心 5 分钟，取上清，用于后续的测定。

（二）标准曲线制备：

冰浴上融解待用试剂，把ATP标准溶液用ATP检测裂解液稀释成适当的浓度梯度。具体的浓度需根据样品中ATP的浓度而定。初次检测可以检测0.01、0.03、0.1、0.3、1、3和10μM这几个浓度，在后续的实验中，可以根据样品中ATP的浓度对标准品的浓度范围进行适当调整。

编号	裂解液体积（μL）	ATP 标准溶液体积	最终浓度（μM）
A	98	从 ATP 标准溶液（0.5mM）中取 2μL	10μM
B	70	从 A 管取 30μL	3μM
C	90	从 A 管取 10μL	1μM
D	90	从 B 管取 10μL	0.3μM
E	90	从 C 管取 10μL	0.1μM
F	90	从 D 管取 10μL	0.03μM
G	90	从 E 管取 10μL	0.01μM

（三）ATP 浓度的测定：

1. 加 100 微升 ATP 检测试剂到检测孔内，室温放置 3-5min。
2. 在检测孔内加上 10 微升样品或已稀释好的 ATP 标准溶液。
3. 用化学发光仪测定 RLU 值。

【注：样品的体积可以自行在 10-100 微升范围内调节。如果样品中的 ATP 浓度比较低则可以加入 100 微升样品，如果样品中 ATP 浓度比较高则可以加入较小体积的样品，同时标准品也需要使用相同的体积。如果样品中 ATP 的浓度特别高，可以用 ATP 检测裂解液稀释样品后再测定】。

保存条件及有效期

-20℃避光保存，自生产之日起 12 个月有效。

运输条件

干冰运输。

注意事项

1. 本试剂盒的检测试剂中含有荧光素酶，反复冻融会导致其逐渐失活。为取得良好的使用效果，第一次解冻后可适当分装保存，但需注意分装的容器不能有 ATP 污染。

2. 荧光素酶的活性对温度比较敏感，所以反应前细胞和 ATP 检测试剂均需平衡至室温后再进行测定。请勿室温存放。

3. ATP，特别是裂解后样品中的 ATP 在室温不太稳定，需在 4℃或冰上操作。

4. 检测时需使用适合于细胞培养的白色或黑色的 96 孔板或 384 孔板。如果使用普通透明的 96 孔板或 384 孔板，相邻孔之间会产生相互干扰。

5. 本试剂盒提供的 ATP 检测裂解液可以有效裂解并释放常见的培养细胞和组织中的 ATP。对于一些特殊的组织或样品，如果发现检测出来的 ATP 水平显著低于预期水平，可以在裂解样品后并且在离心前，取部分样品煮沸 2 分钟以充分释放 ATP。煮沸后样品中的蛋白会变性，从而会在后续的离心

步骤中被沉淀，因此煮沸的样品不能用于蛋白浓度测定、SDS-PAGE 和 Western 检测。可以使用剩余的部分样品进行蛋白浓度测定、SDS-PAGE 和 Western 检测。

6. 为了您的安全和健康，操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。

大连美仑生物技术有限公司
官网:https://www.meilunbio.com/
电话/邮箱:0411-62910999 sales@meilune.com
本产品仅供科研使用